

## 4 Diskussion

Aufgrund der äußerst unterschiedlichen Spielarten der Multiplen Sklerose ist die frühzeitige Beurteilung der Verlaufsform und der verlässliche Nachweis einer Pro- oder Regredienz schwierig.

Im Besonderen durch die Entdeckung geeigneter Therapiemöglichkeiten wie der Behandlung des akuten Schubes mit Kortikoiden oder der Therapie mit Interferonen ist es aber im Interesse des Patienten notwendig, Status und mögliche Veränderungen des Krankheitszustandes rechtzeitig nachzuweisen.

Darüber hinaus kann bei Kenntnis der Verlaufsform der Erkrankung das Therapieschema den Anforderungen entsprechend angepasst werden.

An Bildgebung wird hierzu vor allem die Magnetresonanztomographie verwendet, die beim akuten Schub auftretende Veränderungen, die häufig im periventriculären Marklager liegenden MS-Läsionen, sensitiv nachweisen kann.

Sie ist allerdings mit den bisher vor allem genutzten T1/T2 gewichteten oder FLAIR Sequenzen häufig nicht in der Lage, subtilere Veränderungen der Klinik des Patienten im Laufe seiner Erkrankung darzustellen.

Die Magnetresonanzspektroskopie und die Magnetisierungstransfer-Bildgebung ermöglichen eine Quantifizierung der am Stoffwechsel des Gehirns beteiligten Metabolite und der Makromoleküle, die in der Pathologie der MS eine wichtige Rolle spielen. Sie schaffen einen erweiterten, eher funktionellen Einblick in den Pathomechanismus der MS als die konventionelle MRT.

Magnetresonanzspektroskopie und Magnetisierungstransferbildgebung sollten in dieser Studie auf ihre Differenzierungsmöglichkeit der Erkrankung bei Erstdiagnose untersucht werden.

Über einen Verlauf über mindestens zwei Jahre sollte die Veränderung der mittels der Verfahren erhobenen Parameter unter einem etablierten Therapieschema beobachtet werden.

#### 4.1 Patientenauswahl und Studienplanung

Es wurden 17 Patienten mit klinisch sicherer MS nach den aktuell vom International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis empfohlenen McDonald-Kriterien [16] zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in die Studie aufgenommen.

Bei Studienbeginn waren alle Patienten unbehandelt. Die Verlaufsform der Erkrankung war zum Zeitpunkt des Studienbeginns noch nicht bekannt.

In der zugehörigen Längsschnittuntersuchung sollte die Verlaufsform bestimmt und die untersuchten Parameter auch hinsichtlich ihres prädiktiven Wertes auf die Verlaufsform und den Schweregrad evaluiert werden.

Von den 17 Patienten, die in die Studie zum Zeitpunkt der Erstdiagnose aufgenommen wurden, konnte bei 10 Patienten der Verlauf bis zu 1015 Tage nach Erstuntersuchung fortgesetzt werden. 7 Patienten brachen die Studie aufgrund persönlicher Gründe wie Wechsel des Aufenthaltsortes ab.

Für 7 Patienten, die in der Folgezeit mit Interferon  $\beta$  1a behandelt wurden, konnte die Verlaufsuntersuchung mit monatlichem Intervall über mindestens 730 Tage fortgesetzt werden. Bei einem Patienten fand nach 15 Monaten Beobachtungszeitraum eine Konversion der Erkrankung von der schubförmig remittierenden in die sekundär chronisch progrediente Form statt. Ein Patient wurde über mindestens 730 Tage untersucht und mit Glatirameracetat behandelt. 1 Patient blieb unbehandelt und wurde über mindestens 730 Tage untersucht. So blieben 9 Patienten mit schubförmig remittierender Verlaufsform und 1 Patient mit einer Konversion zur sekundär chronisch progredienten Form zur Beobachtung über mindestens 2 Jahre.

In der Längsschnittuntersuchung wurde die Wirkung von Interferon  $\beta$  1a auf die erhobenen Parameter bei den Patienten mit der schubförmig remittierenden Verlaufsform untersucht. Die Konversion eines Patienten in die sekundär chronisch progrediente Form wurde berücksichtigt.

Um möglichst detaillierte Einsichten in die Veränderungen auch unter Therapie zu erhalten wurde für die Untersuchungen ein monatliches Intervall gewählt.

## **4.2 Kernspintomographische Untersuchungen**

Die Zerstörung der Myelinscheiden durch die MS wurde in der Kernspintomographie bisher vor allem durch die Darstellung von Läsionen in der weissen Substanz des Gehirns und des Myelons nachgewiesen. Mit der konventionellen Kernspintomographie ist es allerdings nicht möglich die Schädigung innerhalb der Läsion zu charakterisieren und zu quantifizieren. Eine entzündliche Läsion ist in der T2-gewichteten Sequenz hinsichtlich ihrer gliotischen Komponente oder dem Grad der Demyelinisierung nicht zu beurteilen..

In histopathologischen Untersuchungen an Gehirnen von Patienten mit MS post mortem ließ sich außerdem auch eine eher diffuse Schädigung der in der konventionellen Kernspintomographie normal erscheinenden weissen Substanz, der sogenannten NAWM nachweisen [52, 55]

Die Magnetresonanzspektroskopie macht über die Messung der Menge an NAA, einem nahezu ausschließlich in Neuronen vorkommenden Metaboliten, eine axonale Schädigung auch in diesen, in konventionellen MR-Bildern potentiell unauffälligen Bereichen, direkt messbar. Hierbei können durch Multivoxelspektroskopie gleichzeitig viele Einzelvolumina aufgenommen und der spektralen Auswertung zugeführt werden.

So kann nahezu die gesamte weisse Substanz des Gehirns auf Veränderungen des Gehalts an Metaboliten untersucht werden. In dieser Studie wurde der Gehalt an NAA im Verhältnis zum Gehalt an Creatinin untersucht.

Desweiteren wurde der Gehalt an Cholin in der weissen Substanz untersucht. Cholin ist als Bestandteil der Zellmembran bei Proliferation von Zellen erhöht. So sollte beobachtet werden, wie sich der Gehalt an Cholin bei den komplexen Entzündungsvorgängen bei Multipler Sklerose verhält.

Aufgrund der bekannten Probleme bei der absoluten Quantifizierung wurden Cho und NAA in ein Verhältnis zu Cr gesetzt und so die Naa/Cr ratio und Cho/Cr ratio bestimmt. Diese Bildung einer Ratio ist ein etabliertes Verfahren. Es hat sich gezeigt, dass von einer genügenden Konstanz des Cr bei der MS auszugehen ist [30].

Bei den untersuchten gesunden Probanden lieferte die Spektroskopie mit der Literatur vergleichbare Ergebnisse bei ähnlichen Sequenzparametern. Bei der Verlaufsuntersuchung der gesunden Probanden ergab sich keine statistisch signifikante Änderung über den Beobachtungszeitraum.

Die Magnetisierungstransfer-Bildgebung bietet die Möglichkeit über die Messung des Anteils der Makromoleküle am Gesamtsignal Veränderungen in Läsionen und der NAWM anzuzeigen und zu quantifizieren [41].

Der Anteil des MT-Effektes am Gesamtsignal variiert bei unterschiedlichen Sequenzparametern. Kenngrößen für MT-Untersuchungen wie Art des Pulses, Länge und Flipwinkel sowie TR und TE, die in der Literatur für größtmögliche Standardisierung vorgeschlagen wurden [56], lieferten bei gesunden Probanden in dieser Studie ähnliche Ergebnisse wie in der Literatur beschrieben [57].

Die etablierten, üblichen Kenngrößen der bildgebenden Kontrolle der cerebralen Schädigungen durch die MS ist aktuell die Bestimmung der Anzahl und des Volumens der Läsionen.

Um Vergleichbarkeit zu gewährleisten wurden in dieser Studie wurden T2-Läsionen gezählt und so die Läsionslast bestimmt und das gesamte Volumen aller Läsionen gemessen. Die so gewonnenen Segmentationsdaten wurden dann auf die Berechnung der MTR übertragen. Um die Genauigkeit zu erhöhen und die Reproduzierbarkeit zu verbessern wurde ein semiautomatisches Verfahren zur Segmentation von Läsionen und NAWM verwendet.

Die Bestimmung der Läsionen ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht automatisiert zu verwirklichen, da die Signalintensitätswerte zwischen Liquor und Läsionen keine sichere Trennung zulassen. Auch die Trennung von weißer und grauer Substanz ist allein auf Basis von Schwellenwerten nicht verlässlich.

Die semiautomatische Segmentation [58] auf Basis von manuell bestimmten Ausgangspunkten war in bisherigen Studien dem manuellen Verfahren überlegen [59]. Nach der Anwendung der Segmentation auf den berechneten MTR-Datensatz konnte dann für Läsionen und für die NAWM die korrespondierenden Areale ausgewertet werden.

Es wurde die gesamte cerebrale weiße Substanz segmentiert und evaluiert. Diese Methode hat gegenüber der Auswertung von ausgewählten ROI Vorteile in der Erfassung diffuser Schädigung der NAWM [60].

### **4.3 Neurologische Untersuchungen**

In Studien, die den klinischen Verlauf der MS und den Grad der Behinderung untersuchten wurde bisher vor allem die EDSS [17] verwendet. Allerdings ist bei der Untersuchung diskreter neurologischer Systeme im Sinne der EDSS die Abhängigkeit vom Manifestationsort der Läsion sehr groß und die Korrelation mit MR-Parametern häufig schwach [61].

In Verlaufsuntersuchungen hat sich gezeigt, dass die EDSS häufig nicht genügend Sensitivität besitzt um auch subtile Veränderungen im Sinne einer Pro- oder Regredienz der Erkrankung nachzuweisen [62]. Auch Veränderungen der kognitiven Leistungsfähigkeit wie durch die Schädigung der NAWM hervorgerufen [63] werden von der EDSS nicht suffizient berücksichtigt.

Für die Überwachung von Therapieerfolgen ist daher eine Einteilung sinnvoller, die auch Veränderungen registriert, die sich nicht sofort in Beeinträchtigung eines Systems wie z.B. des Visuellen auswirken [18, 64].

Die National Multiple Sclerosis Society der USA empfiehlt hierfür den von verschiedenen Arbeitsgruppen entwickelten Multiple Sclerosis functional composite (MSFC). Er bezieht neben motorischer und visueller Behinderung auch Minderung der kognitiven Leistungsfähigkeit in die Bewertung ein.

In ersten Studien konnte eine Korrelation zwischen kognitiver Dysfunktion und

Erniedrigung der MTR der NAWM festgestellt werden [65].

In dieser Studie wurden EDSS und MSFC am Tag der MR-Untersuchung erhoben.

#### **4.4 Querschnittsuntersuchung bei Erstiagnose**

In dieser Studie fiel eine Korrelation des MSFC mit dem T1-Läsionsvolumens auf, die statistische Signifikanz erreichte (Spearman  $r = -0,416$ ,  $p < 0,048$ ).

Diese Beobachtung bestätigte die Ergebnisse bisheriger Querschnittsuntersuchungen an MS-Patienten [66, 67].

Die Korrelation des klinischen Schweregrades mit dem T1-Läsionsvolumen lässt sich durch die gravierende Schädigung neuronaler Strukturen erklären, die in T1-Läsionen vorherrscht, eine Gegebenheit, die in post-mortem-Studien kernspintomographisch und histopathologisch untersucht wurde [68] [69].

Gegenüber dem Baseline EDSS fand sich keine signifikante Korrelation zu den konventionellen Parametern.

Eine Erklärung hierfür ist die Heterogenität des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt des Studienbeginns.

In der Auswertung der konventionellen Sequenzen zeigte sich die große Spannweite der erhobenen Messwerte innerhalb der Patientengruppe. Die durchschnittliche T2-Läsionslast betrug 14,76 (Standardabweichung 11,8), das T2-Läsionsvolumen durchschnittlich 3,03 ml (Standardabweichung 3,92), das T1-Läsionsvolumen durchschnittlich 0,83 ml (Standardabweichung 1,29).

Wie in früheren Studien konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Probanden in den Spektroskopieparametern festgestellt werden. Die Patienten wiesen im periventrikulären Marklager in der NAWM gegenüber den Probanden signifikant erniedrigte Werte für die NAA/Cr-Ratio auf ( $p < 0,005$ ).

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Studien, die einen axonalen/neuronalen Verlust bei Patienten mit MS mithilfe der Spektroskopie in der NAWM zeigen

konnten.

Die Cho/Cr – Ratio war gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Diese Beobachtung ist erklärbar durch eine vermehrte entzündliche Reaktion in der weissen Substanz der Patienten.

Bezüglich der MTR der NAWM von Patienten und Probanden konnten wie in anderen Arbeiten signifikante Unterschiede demonstriert werden [29, 70]. Im Vergleich mit den gesunden Probanden (Durchschnittliche MTR 40,30 %, Standardabweichung 0,74) ergab sich für die durchschnittliche MTR der NAWM der Patienten (38,51 % Standardabweichung 1,05), ein statistisch signifikanter Unterschied (Mann-Whitney,  $p \leq 0,00005$ ).

Diese in Veränderungen der NAWM können durch mikroskopisch nachweisbare Mechanismen wie Entzündung, Ödem oder axonaler Verlust mit Demyelinisierung bedingt sein [51, 52]. Diese Schädigungen scheinen unter anderem auch für den Grad der Behinderung verantwortlich zu sein.

Unter Verwendung neuropsychologischer Tests konnte 1998 in einer Studie eine Korrelation zwischen kognitiver Dysfunktion und Erniedrigung der MTR der NAWM festgestellt werden [65]. In dieser Untersuchung konnte im Querschnitt kein Zusammenhang zwischen MSFC und MTR der NAWM beobachtet werden. Auch für den kognitiven Subtest des MSFC, den PASAT, war keine Korrelation mit der Erniedrigung der MTR der NAWM zu beobachten (Spearman  $r = 0,186$ ,  $p < 0,246$ )

Die Vermutung eines Zusammenhangs zwischen kognitiver Dysfunktion als Ausdruck einer diffusen Schädigung der weissen Substanz und der Erniedrigung der MTR der NAWM bestätigte sich in dieser Studie in der Querschnittsuntersuchung also nicht.

Wie anderen Studien beschrieben [71] ließen sich intraläsional erheblich niedrigere MTR nachweisen als in der NAWM. Bezugnehmend auf die konventionellen Untersuchungen konnte eine starke Korrelation zwischen der MTR innerhalb der Läsionen und dem T1-Läsionsvolumen beobachtet (Spearman,  $r = -5,85$ ,  $p < 0,007$ ) werden.

Der Zusammenhang zwischen Volumen der gravierend geschädigten und der

niedrigen MTR als Ausdruck des Verlustes großer Anteile der Makromoleküle konnte durch Studien unter histopathologischer Korrelation durch ausgeprägte Demyelinisierung und axonalen Verlust erklärt werden [49, 50]. In einer Arbeit korrelierte die axonale Dichte stark mit der MTR [54].



#### 4.5 Längsschnittuntersuchung über mindestens 2 Jahre

In dieser Studie konnte über den Zeitraum von mindestens 2 Jahren unter der Therapie mit Interferon beta 1a eine kontinuierliche signifikante Steigerung der NAA/Cr ratio in der NAWM festgestellt werden. Dies unterstützt die Beobachtung einer weiteren Studie, in der allerdings ein weniger homogenes Patientenkollektiv untersucht wurde [72]. Andere bisherige Studien konnten keine Normalisierung der NAA/Cr ratio zeigen [73].

Allerdings handelte es sich um ein anderes Patientengut unter anderem unter Einschluss von Patienten mit rapid progredienter und primär oder sekundär chronisch progredienter Form der Erkrankung. Ausserdem wurden deutlich weniger Messungen durchgeführt.

Auf eine Kontrollgruppe ohne Interferongabe wurde aus ethischen Gesichtspunkten verzichtet. Allerdings konnte eine kontinuierliche Verringerung der MTR in NAWM in unbehandelten Patienten schon in bisherigen seriellen Studien beobachtet werden [74, 75]. Hierbei zeigte sich eine graduell fortschreitende Erniedrigung der MTR über die Zeit.

Die Cho/Cr ratio in der NAWM der Patienten lag im Durchschnittswert am Ende der Untersuchung niedriger als im Beginn. Allerdings war der Verlauf sehr inkohärent und es ergab sich keine statistische Signifikanz. So bleibt der Stellenwert des Cholins als Verlaufsparemeter für eine entzündliche Affektion der NAWM fraglich. Allerdings lässt die unzusammenhängende Entwicklung der Cho/Cr ratio darauf schließen, dass die Veränderungen der NAA/Cr ratio nicht durch eine isolierte Veränderung des Creatins zustandekommen, wie in einer anderen Studie postuliert [39].

In seriellen Untersuchungen der MTR in Läsionen konnte zum Zeitpunkt des Erscheinens in der T2 und der Aufnahme von Kontrastmittel eine deutliche Verringerung der läsionalen MTR beobachtet werden [29, 54, 76-79]. In einigen Läsionen war auch in den Monaten nach ihrer Entwicklung eine fortschreitende Verringerung der MTR zu beobachten [74, 80, 81]. Häufig kam es über den

weiteren Beobachtungszeitraum dann wieder zu einem Anstieg der MTR, die den Ausgangswert teilweise komplett, teilweise nur partiell erreichte.

In allen bisherigen Untersuchungen an Patienten [82-85] unter Therapie mit Interferonen konnte eine Annäherung der MTR in Läsionen an das Niveau der NAWM beobachtet werden was auch für diese Studie unter der Behandlung mit Interferon  $\beta$  1a gilt. So konnte eine kontinuierliche Zunahme der intraläsionalen MTR bis auf 92,6 % des Wertes der NAWM festgestellt werden. Diese Verbesserung erreichte statistisch signifikantes Niveau (Friedman-Test:  $p < 0,001$ ). Die signifikanteste Erhöhung war im zweiten Jahr der Therapie zu beobachten (Wilcoxon,  $p < 0,028$ ).

Diese deutlichere Remission könnte durch das Zusammenwirken mehrerer Therapieeffekte des Interferons zustande kommen. Experimentell nachgewiesen ist der antiinflammatorische Effekt über die Wirkung auf die Blut-Hirn-Schranke und die Verminderung der Einwanderung inflammatorischer Zellen in das Hirnparenchym [86, 87], in vivo konnte die beschleunigte Erholung der MTR in Läsionen unter Interferon in mehreren Studien bestätigt werden [85] [82].

Eine kürzlich erschienene, randomisierte, doppelt verblindete und placebokontrollierte Studie untersuchte an einem großen Kollektiv die neuroprotektive Wirkung von Interferon  $\beta$  1a in Patienten mit isolierten klinischen Symptomen, die auf eine MS hindeuten und die Konversionsrate in eine klinisch sichere MS [88]. Hierfür wurden konventionelle MRT-Untersuchungen und Volumetrie des gesamten Hirnparenchyms durchgeführt.

Es wurde unter Therapie mit Interferon  $\beta$  1a eine signifikant geringere Konversionsrate in eine manifeste MS beobachtet. Des Weiteren konnte MR-volumetrisch ein signifikant geringerer Verlust an Hirnparenchym ähnlich wie in einer anderen Studie [89] bei manifester MS nachgewiesen werden. Zwischen Auftreten neuer Läsionen und der Volumenminderung des Parenchyms bestand keine starke Korrelation. So wird vermutet, dass die Verringerung des Verlusts an Hirnparenchym eher durch einen anderen therapeutischen Effekt des

Interferons [90], eine Hemmung der axonalen Transsection [53], der diffusen, eher neurodegenerativen Demyelinisierung, hervorgerufen wird.

Diese Erklärung deckt sich mit den Ergebnissen dieser Studie, die zur Beobachtung des neuroprotektiven Effektes die MTR in der NAWM bestimmt hat. Im Beobachtungszeitraum war eine statistisch signifikante Steigerung der MTR der NAWM zu beobachten (Friedman-Test:  $p < 0,021$ ). Anhand dieses Ergebnisses kann eine Verminderung der Schädigung der Axone und in Arealen auch Reymelinisierung [22, 91] vermutet werden.

Am Ende des beobachteten Zeitraumes konnte zwischen den Probanden und den Patienten in der NAWM kein statistisch signifikanter Unterschied mehr festgestellt werden. Im Gegensatz dazu konnte eine andere Studie keine signifikante Erholung der MTR in der NAWM unter Therapie feststellen [84]. Allerdings war das Patientengut partiell schon im fortgeschrittenen Krankheitsstadium und die Patienten wurden über einen Zeitraum von 11 Monaten beobachtet, so dass die Ergebnisse nicht vollständig vergleichbar sind.

Das in dieser Studie verwendete Interferon  $\beta$  1a scheint also bei Patienten mit schubförmiger MS eine Kombination aus antiinflammatorischem und degenerationsverhinderndem Effekt und damit eine positive Wirkung auf die Verminderung der Krankheitsprogredienz im Sinne der bildgebenden Parameter zu besitzen.

Wie sich der klinische Status unter Therapie mit Interferonen verhalten hat wurde von bisherigen Studien in unterschiedlicher Weise untersucht. Unter Therapie mit Interferon  $\beta$  1a konnte sowohl bei der sekundär chronisch progredienten Form [92] als auch bei der schubförmig remittierenden Form [93] eine Verringerung des Fortschreitens der Erkrankung mit Verbesserung der klinischen Beurteilung auch unter Berücksichtigung der kognitiven/mnestischen Funktion beobachtet werden.

In dieser Studie war sowohl im EDSS (Mittelwerte: 1. Untersuchung: 2,16, letzte Untersuchung 0,91, Friedman-Test:  $p < 0,04$ ) als auch im MSFC (Mittelwerte: 1.

Untersuchung: 0,02, letzte Untersuchung 0,67, Friedman-Test:  $p < 0,03$ ) über den gesamten Beobachtungszeitraum eine kontinuierliche, statistisch signifikante Veränderung in Richtung geringerer klinischer Beeinträchtigung nachzuweisen.

Auch in den aus allen korrespondierenden Messwerten der Längsschnittuntersuchung berechneten Korrelationen lässt sich ein Zusammenhang zwischen den klinischen Parametern und den MTR-Messwerten feststellen.

Hier zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der EDSS und der MTR in Läsionen (Spearman:  $r = -0,298$ ,  $p < 0,015$ ) und dem MSFC und der MTR in der NAWM (Spearman:  $r = 0,476$ ,  $p < 0,0001$ ), was die o.g. Überlegungen unterstützt.